

TEMUAN PENYAKIT BARU

Kejadian Pertama Infeksi *Zucchini yellow mosaic virus* pada Tanaman Mentimun di Padang, Sumatera Barat

The First Occurrence of *Zucchini yellow mosaic virus* Infecting Cucumber in Padang, West Sumatra

Muhammad Arif Ridho, Fadli, Martinius,
Yenny Liswarni, Lailatul Najmi, Jumsu Trisno*

Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas
Kampus Unand Limau Manis, Padang 25166

(diterima September 2023, disetujui Oktober 2023)

ABSTRAK

Tanaman mentimun varietas lokal Padang merupakan tanaman sayuran unggulan bagi petani perkotaan karena umur panen yang pendek. Hasil survei menemukan adanya gejala bercak kuning dan klorosis dengan tulang daun hijau. Gejala ini mirip dengan infeksi *Papaya ring spot virus* (PRSV) yang menginfeksi mentimun di Jawa dan *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) yang menginfeksi mentimun pada umumnya. Deteksi virus dilakukan dengan teknik *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) menggunakan primer spesifik PRSV dan primer universal *Potyvirus*, perunutan dan analisis DNA. RT-PCR menggunakan primer spesifik PRSV DNA target tidak menghasilkan pita DNA, namun pita DNA dengan ukuran ± 320 pb berhasil teramplifikasi dengan primer universal *Potyvirus*. Analisis sikuen nukleotida menunjukkan bahwa similaritas virus tertinggi sebesar 93.8% dan 93.5%, berturut-turut dengan ZYMV isolat Singapura dan India. Infeksi ZYMV merupakan kejadian pertama pada tanaman mentimun di Padang, Sumatera Barat.

Kata kunci: perunutan DNA, *Potyvirus*, RT-PCR, *Zucchini mosaic yellow virus*

ABSTRACT

Cucumber Local Padang variety is considered as a superior vegetable crop by urban farmers due to its early harvest time. Yellow spots and chlorosis symptoms was found on cucumber plants during field surveys conducted recently. These symptoms are similar to *Papaya ring spot virus* (PRSV) infection on cucumbers in Java, and common symptoms of *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) infection on cucurbits. Detection of the causal virus was carried out by the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) using PRSV specific primer and universal primers of *Potyvirus*, DNA sequencing and analysis. DNA target was not amplified by RT-PCR using PRSV specific primer, but DNA fragment of ± 320 bp was successfully amplified using *Potyvirus* universal primer. The nucleotide sequences analysis showed highest similarity of 93.7% and 93.5% to the ZYMV isolates from Singapore and India, respectively. This is the first report on the occurrence of ZYMV infection on cucumber plants in Padang, West Sumatra.

Key words: *Potyvirus*, RT-PCR, DNA sequencing, *Zucchini mosaic yellow virus*

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas. Kampus Unand Limau Manis, Padang 25166.
Tel: +62 75172701, Faks:+62 75172702, Surel: jumsutrisno1969@gmail.com.

Tanaman mentimun merupakan tanaman sayuran unggulan petani perkotaan, karena umur panen yang genjah dan dapat panen 2–3 kali dalam seminggu. Salah satu kendala dalam budi daya tanaman mentimun ialah infeksi patogen tanaman. Virus utama yang menginfeksi tanaman mentimun di antaranya ialah *Cucumber aphid-borne yellow virus* (CABYV), *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Papaya ring spot virus* (PRSV), *Squash mosaic virus* (SqMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), dan *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (Ali *et al.* 2012). *Begomovirus* juga merupakan virus yang dilaporkan menginfeksi mentimun (Shtayeh *et al.* 2010) dan juga sudah dilaporkan menginfeksi mentimun di Jawa dan Bali (Septariani *et al.* 2014; Wiratama *et al.* 2015; Haerunisa *et al.* 2016; Listihani *et al.* 2019).

PRSV dan ZYMV pada tanaman mentimun di Indonesia merupakan penyakit yang penyebarannya cukup luas. Hasil uji kisaran inang PRSV strain pepaya menimbulkan gejala mosaik ringan pada *Cucurbitaceae* dengan keparahan penyakit mencapai 40% (Harmiyati *et al.* 2015). PRSV dan ZYMV pada tanaman mentimun dan kabocha di Jawa telah dilaporkan keberadaannya (Listihani *et al.* 2018a; Listihani *et al.* 2018b; Damayanti *et al.* 2022). ZYMV merupakan salah satu virus yang sangat merusak dan merugikan tanaman mentimun (Hseu *et al.* 1987). Sutarya (2005) melaporkan bahwa 83.9% sampel tanaman mentimun yang diuji positif terinfeksi oleh ZYMV. Namun, laporan penyebaran virus ini di Indonesia masih terbatas.

Hasil survei yang dilakukan di Kecamatan Kuranji dan Pauh di Kota Padang ditemukan adanya gejala daun menguning, mosaik dan belang ringan. Informasi yang didapatkan dari petani gejala seperti ini ditemukan setiap musim tanaman dengan intensitas serangannya yang beragam. Hasil penghitungan insidensi dan keparahan penyakit pada saat dilakukan survei rata-rata 67.5% dan 31.7%. Gejala yang ditemukan ini mirip dengan gejala infeksi *Papaya ring spot virus* (PRSV) dan *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) pada mentimun

di Jawa (Listihani *et al.* 2018a; Listihani *et al.* 2018b; Laili dan Damayanti 2019; Naimatul *et al.* 2022), dan Bali (Pandawani dan Widayana 2021). Oleh karena itu perlu dilakukan deteksi lebih lanjut untuk memastikan patogen penyebabnya.

Deteksi dan identifikasi virus dilakukan dengan metode *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) dan dikonfirmasi dengan perunutan DNA. RT-PCR dilakukan menggunakan primer spesifik PRSV: PRSV326/PRSV800 (Mohammed *et al.* 2012) dan primer universal: *Potyvirus* MJ1/MJ2 (Marie-Jane *et al.* 2000) dengan target ampikon DNA berukuran ± 470 pb dan ± 320 pb.

Isolasi RNA total dari sampel daun mentimun dilakukan dengan Plant Total RNA Mini Kit (Genaid, Taiwan) mengikuti protokol dari pembuat kit. RNA total yang didapatkan selanjutnya digunakan untuk sintesis cDNA. Sintesis cDNA dilakukan pada mesin PCR dengan program yang terdiri atas suhu 37 °C selama 15 menit, dilanjutkan suhu 50 °C selama 5 menit, dan diakhiri suhu 98 °C selama 5 menit. Sintesis cDNA dilakukan mengikuti protokol manual dari *kit ReverTra Ace qPCR Master mix* (Toyobo, Jepang).

Amplifikasi cDNA menggunakan PCR dengan komposisi reaktan sebagai berikut; 25 μ L KOD One™ PCR Master mix-Blue (Toyobo, Jepang), primer *forward* dan *reverse* (10 ng/ μ L) masing-masing sebanyak 2 μ L, 2 μ L cDNA dan air bebas nuklease sampai dengan volume total 50 μ L. Amplifikasi cDNA dengan primer spesifik PRSV dan universal *Potyvirus* mengikuti program PCR yang digunakan oleh Mohammed *et al.* (2012) dan Marie-Jane *et al.* (2000).

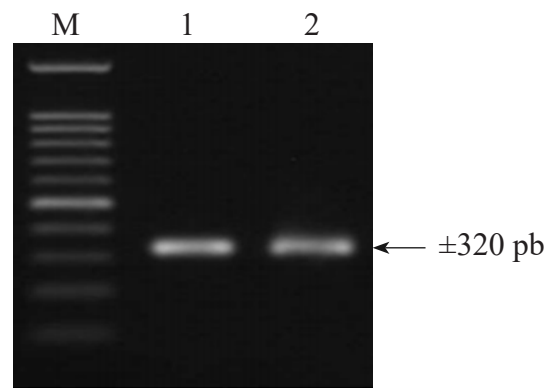
DNA hasil PCR diseparasi dengan elektroforesis pada gel agarosa 1% (TAE) dan divisualisasi dengan UV-transiluminator pada *Gel Documentation System* (Biometra, Jerman). DNA hasil amplifikasi selanjutnya dikirim ke jasa perunutan DNA. Hasil perunutan DNA dianalisis dan dibandingkan kesamaan nukleotidanya pada data GenBank menggunakan perangkat lunak Bioedit versi 7.0.5.

Di lapangan, gejala yang ditemukan berupa daun bercak kuning dan klorosis dengan tulang daun hijau (Gambar 1a dan 1c). Hasil penularan secara mekanis kedua sampel menunjukkan gejala yang berbeda, yaitu mosaik dengan warna hijau tua dan muda (Gambar 1b), dan mosaik kuning (Gambar 1d). Hal ini menunjukkan bahwa dari gejala infeksi virus pada tanaman mentimun disebabkan oleh infeksi ganda virus seperti yang dilaporkan oleh Listihani *et al.* (2018b). Begomovirus sudah umum dilaporkan menginfeksi cucurbit, khususnya mentimun di Jawa dan Bali. Perbedaan gejala bercak kuning dan klorosis menjadi bergejala mosaik dan mosaik kuning setelah ditularkan ke tanaman sehat mengindikasikan adanya virus lain. Hal ini dikarenakan di antaranya *Begomovirus* yang tidak dapat ditularkan secara mekanis.

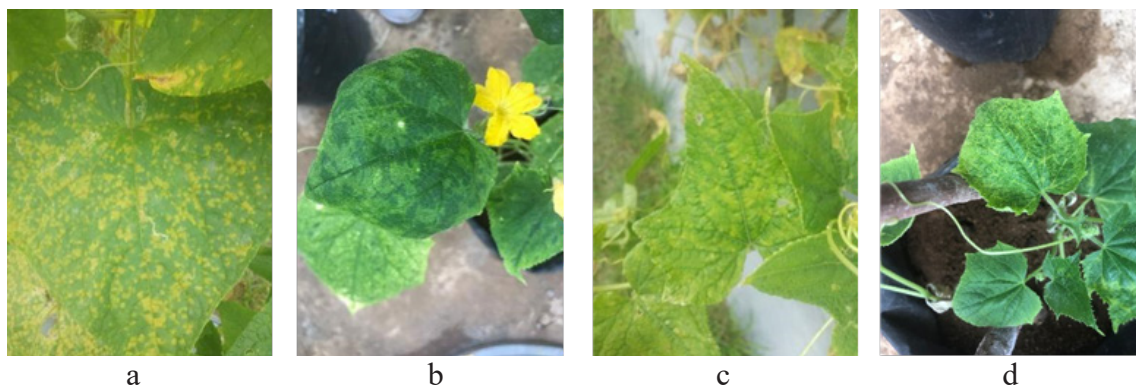
Amplifikasi DNA menggunakan primer spesifik PRSV tidak teramplifikasi DNA yang berukuran ± 470 bp (data tidak ditampilkan). Namun, amplifikasi cDNA dengan primer universal *Potyvirus* berhasil mengamplifikasi DNA berukuran ± 320 bp dari dua gejala yang berbeda (Gambar 2). Analisis penyejajaran nukleotida parsial gen CP, menunjukkan similaritas paling tinggi, yaitu 93.7% (isolat Padang 1) dan 93.5% (isolat Padang 2) terhadap *Zucchini yellow mosaic virus* isolat Singapura dan India (Tabel 1). Salah satu isolat ZYMV-GK asal kabocha hijau sudah dikarakterisasi sifat biologi dan molekulernya.

Isolat ZYMV-GK ini menginfeksi *Cucurbitaceae* yang diuji dan menyebabkan gejala mosaik yang bervariasi bergantung pada inangnya. Namun, isolat GK tidak dapat menginfeksi oyong (Damayanti *et al.* 2022). Spadotti *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa ditemukan beberapa isolat ZYMV yang berbeda karakter biologi khususnya respons terhadap cucurbit, tanaman indikator dan karakter genetiknya.

Berdasarkan hasil deteksi dan identifikasi diketahui bahwa gejala bercak kuning dan klorosis pada mentimun di Padang disebabkan oleh ZYMV. Kedua isolat (Padang 1 dan Padang 2) menunjukkan similaritas nukleotida tertinggi dengan isolat Singapura dan India.



Gambar 2 Amplifikasi cDNA sampel daun mentimun menggunakan primer universal *Potyvirus* pada target 320 pb. 1, Sampel mentimun bergejala mosaik; 2, Sampel mentimun bergejala klorosis; dan M, Penanda DNA 100 pb (ThermoScientific, USA).



Gambar 1 Variasi gejala virus mosaik kuning pada tanaman mentimun di Padang. a, Mosaik kuning dari lapangan; b, Mosaik hijau tua dan hijau muda hasil inokulasi secara mekanis gejala a; c, Klorosis dari lapangan; dan d, Mosaik kuning pada tulang hasil inokulasi hasil inokulasi secara mekanis gejala c.

Tabel 1 Tingkat similaritas sikuen nukleotida *Zucchini yellow mosaic virus* tanaman mentimun isolat Padang terhadap beberapa isolat negara lain dalam GenBank.

Isolat ZYMV	No. Akses	Similaritas nukleotida ZYMV isolat Padang (%)	
		1	2
Hangzhou China	AJ307036.1	90.1	88.9
India	OP947577.1	93.7	93.5
Singapore	X62662.1	93.7	93.5
Australia Barat	KY225545.1	90.0	92.8
Brazil	JX502669.1	89.1	90.3
Oklahoma (Pumpkin)*	MK124612.1	88.8	91.9

* Isolat dari tanaman labu

Keberadaan ZYMV pada mentimun ini menjadi temuan baru penyebaran ZYMV di luar Jawa sehingga perlu dilakukan penelitian terkait karakter biologi dan molekuler ZYMV dari berbagai tanaman *Cucurbitacea* di Provinsi Sumatera Barat. Hal ini penting untuk dasar dalam penyusunan strategi pengelolaan penyakitnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui hibah Fakultas Pertanian dengan kontrak no.: 6 / PL/ SPK/PNP/FAPERTA-Unand/2023, Tahun Anggaran 2023. Terima kasih disampaikan kepada pimpinan fakultas atas hibah penelitian ini dan saudari Maythesya Oktavioni, SP., M.Biotek dalam membantu pelaksanaan amplifikasi RT-PCR di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali A, Mohammad O, Khattab A. 2012. Distribution of viruses infecting cucurbit crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in Oklahoma. *Plant Disease* 96:243–248. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-11-0419>.
- Damayanti TA, Nurjanah T, Listihani L, Hidayat SH, Wiyono S. 2022. Characterization of a variant isolate of *Zucchini yellow mosaic virus* infecting green kabocha (*Cucurbita maxima* L.) in Bogor, Indonesia. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 55(1):121–128. DOI: <https://doi.org/10.1080/03235408.2021.2003604>.
- Farida N, Damayanti TA, Efendi D, Hidayat SH. 2022. Insidensi dan identifikasi molekuler *Papaya ring spot virus* pada pepaya di Jawa. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* . 18(1):43–51. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.18.1.43-51>.
- Haerunisa R, Suastika G, Damayanti TA. 2014. Identifikasi *Begomovirus* yang berasosiasi dengan penyakit kuning pada mentimun di Jawa Barat dan Bali. *Jurnal Hortikultura Indonesia* 7(1):9–20. DOI: <https://doi.org/10.29244/jhi.7.1.9-20>.
- Harmiyati T, Hidayat SH, Adnan AM. 2015. Deteksi dan respons lima varietas pepaya terhadap tiga isolat *Papaya ring spot virus* (PRSV). *Jurnal AgroBiogen*. 11(3):87–94. DOI: <https://doi.org/10.21082/jbio.v11n3.2015.p87-94>.
- Hseu SH, Huang CH, Chang CH, Yang WZ, Chang YM, Hsio CH. 1987. The occurrence of five viruses in six cucurbits in Taiwan. *Plant Protection Bulletin*. 29(3):233–244.
- Laili NU, Damayanti TA. 2019. Identifikasi virus pada tanaman mentimun di Jawa Barat. *Agrovigor*. 12(1):8–15. DOI: <https://doi.org/10.33462/jotaf.707645>.
- Listihani, Damayanti TA, Hidayat SH, Wiyono S. 2018a. Karakterisasi molekuler *Papaya ringspot virus* tipe P pada tanaman mentimun di Jawa. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 13(3):75–82. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.14.3.75>.

- Listihani, Damayanti TA, Hidayat SH, Wiyono S. 2018b. *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV) on Cucumber (*Cucumis sativus* L.) in Java, Indonesia. Proceedings of SEAMEO BIOTROP Third International Conference on Tropical Biology “Conservation, Enhancement: and Sustainable Use of Indigenous Tropical Flora and Fauna”. p.116–119.
- Listihani, Damayanti TA, Hidayat SH, Wiyono S. 2019. Molecular characterization of *Begomovirus* on cucumber in Java. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 23(2): 197–204. DOI: <https://doi.org/10.22146/jpti.41402>.
- Marie-Jeanne V, Ioos R, Peyre J, Alliot B, Signoret P. 2000. Differentiation of poaceae Potyviruses by reverse transcription polymerase chain reaction and restriction analysis. *Journal of Phytopathology*. 148:141–151. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2000.00473.x>.
- Mohammed H, Manglli A, Zicca S, El Hussein A, Mohamed M, Tomassoli L. 2012. First report of *Papaya ring spot virus* in pumpkin in Sudan. *New Disease Report*. 26:26. DOI: <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2012.026.0266>.
- Pandawani NP, Widnyana IK. 2021. Identification of virus causes of mosaic diseases in zucchini plants in the Bali island of Indonesia. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (3):411–418. DOI: <https://doi.org/10.33462/jotaf.707645>.
- Septariani DN, Hidayat SH, Nurhayati E. 2014. Identifikasi penyebab daun keriting kuning pada mentimun. *Jurnal HPT Tropika* 14(1):80–86. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.11480-86>.
- Shtayeh MSA, Jamous RM, Husein EY, Alkhader MY. 2010. First report of squash leaf curl in squash (*Cucurbita pepo*), melon (*Cucumis melo*), and cucumber (*Cucumis sativus*) in the Northern West Bank of the Palestinian Authority. *Plant Disease* 94(5):640. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-5-0640B>.
- Spadotti DMA, Wassano DT, Rezende JAM, Camargo LEA, Nagata AKI. 2015. Biological and molecular characterization of Brazilian isolates of *Zucchini yellow mosaic virus*. *Scientia Agricola* 72(2):187–191. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0197>.
- Sutarya R. 2005. Deteksi penyakit yang disebabkan oleh virus pada tanaman mentimun. Laporan intern ATA-395.
- Wiratama IDMP, Wirya GNAS, Andyani NNP, Nyana IDN, Suastika G. 2015. Laporan pertama infeksi *Begomovirus* pada mentimun di Bali. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 11(5):175–178. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.11.5.175>.